

일반생물학실험2 레포트1

실험 2. 순환계 및 심장박동 (Circulatory System)

20241121 이다은

I. Abstract

본 실험은 살아있는 생쥐의 심장을 관찰하여, 신경전달물질과 온도가 심장 박동에 미치는 영향을 확인하고자 하였다. 교감신경 흥분제인 Adrenaline은 심장 박동을 촉진하여 심박수를 증가시키는 것으로 알려져 있으며, 부교감신경 흥분제인 Acetylcholine은 반대로 심박수를 감소시키는 기능을 가진다. 이를 검증하기 위해 본 연구에서는 생쥐 심장에 각각 Adrenaline(50 μ M)과 Acetylcholine(50 μ M)을 처리하고, 추가적으로 4°C의 PBS 용액 2 ml를 적용하여 저온 자극을 가한 뒤 심박수 변화를 측정하였다. 그 결과, Adrenaline 처리 시 심장 박동이 빨라지는 것을, Acetylcholine과 저온의 PBS 처리 시에는 심장 박동이 느려지는 것이 관찰되었다. 이를 통해 교감신경 흥분은 심장 박동을 촉진하고, 부교감신경 흥분 및 저온 자극은 심장 박동을 억제함을 실험적으로 관찰할 수 있었다.

II. Introduction

생명체는 생존에 꼭 필요한 산소, 영양분 등을 혈액을 통하여 온몸의 조직으로 운반하고 대사 과정에서 형성된 노폐물을 제거하기 위해 순환계를 가지고 있다. 순환계의 중추 기관인 심장은 혈액을 온 몸으로 보내는 역할을 하며, 생명 유지에 필수적이다. 포유류의 심장은 2심방 2심실 구조로 이뤄져 있어 산소가 많은 혈액과 산소가 적은 혈액이 섞이지 않은 채 효율적으로 전신 순환과 폐순환으로 구분하여 순환시킨다.

심장은 스스로 수축하고 이완할 수 있는 기관이다. 그 이유는 동방 결절에서 전기 신호가 발생한 후 방실결절, 히스색, 푸르킨에 섬유를 통해 전도되며 규칙적인 박동이 유지되기 때문이다. 그러나 심장 박동수는 항상 일정하지 않고, 특정 요인들에 의해 달라진다. 자율 신경계로 인한 조절이 주된 요인인데, 교감 신경은 아드레날린을 분비해 동방결절의 탈분극 속도를 높여 심박수를 증가시키고, 부교감 신경은 아세틸콜린을 분비해 동방결절의 세포막의 과분극을 유도하여 심박수를 감소시킨다. 또한 심장 박동은 물리적 환경에도 영향을 받는다. 온도가 낮아지면 심근의 대사가 저하되어 박동이 느려진다.

아래의 표는 심장 박동수에 영향을 미치는 신경전달물질과 온도의 작용 기전을 요약한 것이다.

<Table1. 자율신경계 및 온도에 의한 심박수 조절 기전>

조절 요인	예시	주요 작용 기전	심박수에 미치는 영향
교감신경계	Adrenaline	동방결절의 탈분극 속도 증가, 칼슘 이온 유입 촉진	심박수 증가
부교감신경계	Acetylcholine	동방결절 세포막 과분극 유도, 탈분극 속도 감소	심박수 감소
온도 저하	저온 환경, 냉각	심근 대사율 감소, 전도 속도 저하	심박수 감소

조절 요인	예시	주요 작용 기전	심박수에 미치는 영향
온도 상승	고온 환경	심근 대사율 증가, 전도 속도 촉진	심박수 증가

따라서 본 연구에서는 생쥐의 심장을 이용하여 살아있는 심장의 박동을 직접 관찰하고, 교감 및 부교감 신경의 작용을 모방하는 신경전달물질인 Adrenaline과 Acetylcholine, 그리고 저온 자극이 심박수에 미치는 변화를 탐구하고자 한다. 이를 통해 심장 박동의 근원성과 그 조절 기전을 보다 심층적으로 이해하는 것을 목표로 한다.

III. Materials and Methods

실험복과 장갑을 착용하였다. 실험에 사용된 용액으로는 생리적 조건을 유지하기 위한 37°C PBS 용액, 신경전달물질 처리를 위한 50μM 아세틸콜린 및 50μM 아드레날린 용액, 저온 자극에 의한 심장 박동의 영향을 관찰하기 위해 4°C PBS를 별도로 준비하였다. 아드레날린은 빛에 쉽게 산화되어 불안정해지므로 알루미늄 호일로 차광하여 보관하였다.

실험에 사용할 생쥐는 데시케이터 내 에테르 흡입을 통해 마취한 후, 생쥐가 움직임이 없을 때까지 10분 정도 기다린 다음, 해부판에 생쥐의 사지를 해부판으로 고정하였다. 70% ethanol을 충분히 분무하여 절개 시 생쥐의 털이 날리지 않도록 하였다. 생쥐의 흉곽을 절개하여 생쥐의 심장을 육안으로 관찰할 수 있고, 용액을 떨어뜨릴 수 있게 공간을 확보하였다. 생쥐의 심장이 노출된 후, 장기가 마르지 않도록 37°C PBS를 뿌린 후 30초 정도 심장 박동이 안정화되기를 기다린다. 실험 매뉴얼에서는 1분 동안 심박수를 계수하여 분당 심박수(bpm)를 기록하도록 되어 있으나, 본 실험에서는 반복 실험의 편의를 위해 15초(또는 10초) 동안 심박수를 계수한 뒤 이를 각각 4배(15초 기준) 또는 6배(10초 기준)하여 분당 심박수로 환산하였다.

심장 박동이 규칙적이게 되면 15초 동안 수동 계수기를 이용하여 정상 심박수를 측정하였다. 이후 심장에 50μM 아세틸콜린부터 심장에 100 μl 떨어뜨린 후 15초 동안 수동 계수기를 이용하여 심박수를 기록한다. 용액 적용 직후에는 아세틸콜린이 심장에 도달하여 작용하기까지 지연시간이 존재하므로, 심박수 변화가 나타날 때까지 30초 정도 대기한 후 측정하였다. 처치 후에는 37°C PBS를 2ml 로 심장을 wash한 뒤, 1분 정도 대기하며 심박수가 정상 심박수로 돌아갔는지를 체크한다. 정상 심박수로 돌아갔는지 확인하기 위해 10초간 수동 계수기를 이용하여 심박수를 기록하였다.

같은 방법으로 50μM 아드레날린을 심장에 100 μl 떨어뜨린 후 용액의 적용 후 심장의 반응이 안정화되는 시점을 고려하여 약 30초 후 심박수를 15초 동안 수동 계수기를 이용하여 심박수를 기록하였다. 이후 동일하게 세척 과정을 수행하고 심박수의 정상 회복을 확인하였다.

온도 변화로 인한 심장 박동의 변화를 관찰하기 위해 4°C PBS를 500 μl를 심장 주변 조직부터 심장에 서서히 뿌려주었다. 이는 체온의 급감을 방지하기 위해 즉, 국소적 급속 냉각에 의한 비정상 반응을 방지하기 위함이다. 심장의 반응이 안정화되도록 30초 대기한 후 15초 동안 심박수를 측정하였다. 모든 실험이 종료된 후, 실험동물은 동물실험 윤리 지침에 따라 적절히 폐기하였다.

IV. Results

<Table2. 각 물질 처리에 따른 심박수 변화 측정 결과>

	조별 측정값		평균값	표준편차
정상 심박수	1조	228	205.33	19.73
	2조	192		
	3조	196		
Acetylcholine	1조	176	149.33	64.29
	2조	196		
	3조	76		
Epinephrin	1조	252	192	74.94
	2조	216		
	3조	108		
저온 PBS	1조	136	102.67	47.72
	2조	124		
	3조	48		

각 물질 처리에 따른 심박수의 변화에 대한 표이다. 세 조에서 실험을 하였기 때문에 세 값의 평균 및 표준 편차를 계산하였다. 각 조의 심박수 측정값을 바탕으로 평균과 표준편차를 계산하였다. 표준편차는 다음 식을 사용하였다.

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

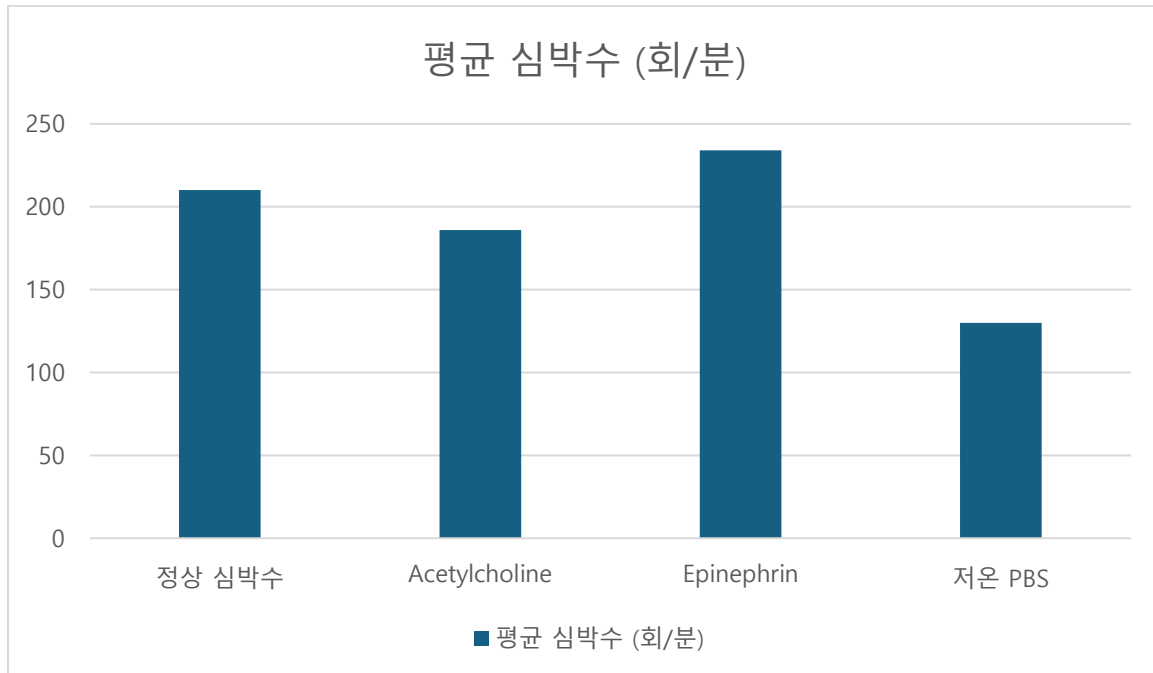
여기서, x_i 는 각 조의 측정값, \bar{x} 는 평균값, n 은 표본 수이다.

3조의 경우, 실험 도중 심박수가 지속적으로 감소하는 경향을 보였다. 이는 일반적인 약물 반응으로 보기 어려워 이상치로 판단하고 분석에서 제외했다. 이상의 결과는 경향성을 확인하는데 의의가 있으나, $n=2$ 로 인한 표본 수 부족으로 통계적 신뢰도가 낮음을 유념해야 한다.

<Table3. 이상치를 제외한 심박수 변화 측정 결과>

	조별 측정값		평균값	표준편차
정상 심박수	1조	228	210	25.46
	2조	192		
Acetylcholine	1조	176	186	14.14
	2조	196		
Epinephrin	1조	252	234	25.46
	2조	216		
저온 PBS	1조	136	130	8.49
	2조	124		

이를 바탕으로 평균 심박수에 대한 그래프를 그려보면 다음과 같다.



<Figure1. 이상치를 제외한 각 물질 처리에 따른 심박수 변화>

아세틸콜린(50 μ M, 100 μ l) 처리 후 심박수의 저하가 나타났다. 1분 동안 측정된 심박수는 정상 대비 11.43% 감소하였다. 아드레날린(50 μ M, 100 μ l) 처리 후부터 심박수의 증가가 관찰되었다. 1분 동안 측정된 심박수는 정상 대비 11.43% 증가하였다. 4°C PBS(500 μ l)를 심장 주변부터 적용하였을 때, 심박수가 일시적으로 38.1% 감소하였다. 이때, 심박수 변화율(%)은 다음 식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{변화율(\%)} = \frac{(\text{처리 후 심박수} - \text{정상 심박수})}{\text{정상 심박수}} \times 100$$

V. Discussion

본 실험에서는 신경전달물질과 온도 자극이 심박수에 영향을 미친다는 것을 확인하였다. 실험 결과 아세틸콜린 처리는 심박수를 감소시키는 효과가 있었고 아드레날린은 심박수를 증가시키는 효과를 보였다. 이러한 결과는 기존의 생리학적 지식과 일치한다.

교감 신경은 우리가 운동을 하거나 긴장할 때 활성화된다. 그때 아드레날린과 같은 교감신경 자극제가 분비되어 심장에 작용한다. 아드레날린은 심장 세포의 리듬을 조절하는 부분인 동방결절에 작용하여 심장 박동이 더 빨라지도록 만든다. 따라서 싸우거나 도망가야하는 상황에서 몸에 더 많은 혈액과 산소가 빠르게 공급될 수 있도록 한다.

부교감 신경은 우리가 휴식하거나 소화를 할 때 주로 활성화된다. 이때 아세틸콜린이 분비되어 심장의 박동을 느리게 한다. 그 결과 에너지를 절약하며 안정적인 상태를 유지할 수 있다.

아드레날린은 실제로 병원에서 심장이 멈추거나 호흡 곤란이 있는 등의 위급상황에 약물로 사용된다. 주사하면 심장이 더 강하게 뛰거나 기관지를 넓혀 호흡을 돕는다. 실험 매뉴얼에도 '심장이 멈출 징조를 보이면 아드레날린 용액을 뿌려준다'라는 언급이 있다. 또한 알레르기 쇼크

때에도 에피펜으로 알려져있는 아드레날린 주사를 활용한다.

아세틸콜린 자체는 약으로 직접 투여하지는 않는다. 하지만 아세틸콜린의 작용을 모방하거나 강화하는 약물을 의학적으로 활용한다. 예를 들어 고혈압 치료제 중 일부나, 부교감 신경을 자극하는 약물은 심장 박동을 늦추는 데 사용된다. 또한 안과에서는 아세틸콜린 작용제를 활용해 동공을 수축시키기도 한다. 심장이 빠르게 뛰는 것이 문제인 부정맥 환자의 경우, 아세틸콜린 작용을 흥내내는 약물이 사용될 수 있다.

실험을 통해 심장에 저온 자극을 주었을 때 심박수가 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. 일반적으로 체온이 낮아지면 대사율이 떨어지고 그 결과 심장의 박동수도 감소한다. 이는 생화학적 반응 속도가 온도에 크게 의존하기 때문이다. 저온 환경에서는 효소의 활성화와 이온 통로의 개폐 속도가 느려지고 그 결과 심장 근육 세포에서 활동전위가 일어나는 주기가 길어진다. 따라서 심장 자체의 이완수축 주기가 늘어나 심박수가 감소하게 되는 것이다.

하지만 몸 전체의 온도 변화와 심장 자체의 온도 변화를 구분할 필요가 있다. 전신 체온이 떨어질 경우에는 호르몬 분비와 자율신경계의 조절을 포함한 전신의 생리적 반응으로 인하여 점진적으로 심박수가 낮아진다. 그러나 본 실험은 심장의 국소 부위에 차가운 용액을 떨어뜨린 것으로 전신의 체온 변화와 별개로 심장 조직 국소의 급격한 냉각으로 작용한다. 그 결과 심장 근육 세포의 흥분성과 자극 전달 속도가 직접적으로 느려져 즉각적인 심박수 감소가 나타난다.

심장이 온도 변화에 민감한 조직이라는 점에서 3조의 실험 결과가 이상치가 된 이유를 도출해볼 수 있을 것이다. 3조의 생쥐는 심박수가 점점 느려졌다. 생쥐의 심장이 정상적으로 기능하지 못하게 된 것인데 이는 4°C PBS 용액을 주변 조직에서부터 떨어뜨리지 않고 심장에 직접 주입하였기 때문일 수도 있다. 심장은 차가운 용액이 직접 닿으면 국소적이고 급격한 온도 변화가 생겨 부정맥, 더 나아가 심정지까지 유발될 수 있다. 즉, 심장 주변 조직에서부터 저온 용액을 뿌렸다면 체온이 서서히 낮아져 심장의 정상적이고 점진적인 변화를 관찰할 수 있었을 것이라는 걸 추측할 수 있다.

또한 심박수를 측정하는 도구로 맨눈과 수동 계수기를 사용하였는데 측정 과정에서의 박동수를 세는 속도 차이와 같은 실험자의 주관적 오류가 발생했을 가능성이 있다. 그러므로 3조의 결과가 이상치로 나타난 이유 역시 온도 조건 이외에 관찰자에 따른 측정 편차나 세포 상태 차이와 같은 다양한 변수가 작용했을 가능성이 있다. 더불어, 실험은 3개의 조의 결과를 바탕으로 하여 표본 수가 매우 적었으며, 특히 이상치가 제외된 후에는 2개의 실험 결과를 통해 분석하여 통계적 신뢰도가 낮다는 한계가 존재한다. 따라서 이번 결과는 전반적인 경향성을 확인하는 수준에서 의의가 있으며, 보다 일반화된 결론을 위해서는 더 많은 표본 수와 정량적 장비를 활용한 반복 실험이 필요할 것이다.

신경전달물질과 온도 변화 이외에도 심박수에 영향을 미치는 요인이 추가적으로 존재한다. 동물의 몸의 크기가 그 요인이다. 예를 들어 이번 실험에서 실험 동물로 사용한 생쥐와 몸의 크기가 상대적으로 매우 큰 코끼리를 비교해보자. 직관적으로는 코끼리처럼 덩치가 큰 동물이 더 넓은 몸에 혈액을 전달해야 하기에 심장이 더 빠르게 뛸 것 같아 보인다. 그러나 실제로는 생쥐의 심장이 훨씬 빠르게 뛴다. 일반적으로 동물의 크기와 심박수는 반비례 관계이다. 그 이유는 부피 대비 표면적 비율에서 찾을 수 있다. 작은 동물일수록 부피에 비하여 표면적이 넓어 열 손실이 크고, 체온 유지와 대사활동에 필요한 산소 공급량이 상대적으로 많다. 따라서 쥐의 경우 코끼리보다 산소 소모가 더 활발해 심장이 더 빨리 뛰는 것이다.

몸의 크기와 심박수가 반비례 관계라는 관찰을 인간에게 적용해보면, 사람 역시도 체구나 대사율에 따라 심박수가 달라질 수 있다는 것을 알 수 있다. 체구가 작은 사람이나 기초 대사율이 높은 사람은 심장이 상대적으로 빠르게 뛰는 경향이 있고 체구가 크거나 대사율이 낮은 사람은 심박수가 느린 경향을 보인다. 즉, 동물의 크기와 심박수의 관계는 인간에서도 체질, 대사율, 체격 차이가 심박수에 영향을 줄 수 있다는 점을 시사한다.

이번 실험을 통해 교감, 부교감 신경계가 심장을 정밀하게 조절하고, 심장이 온도와 같은 외부 물리적 조건에도 민감하게 반응한다는 것을 알 수 있었다. 또한 동물의 크기와 대사율 차이에 따라 심박수가 달라진다는 사실을 확인할 수 있었다. 다만 이번 실험은 눈으로 심장 박동을 관찰하고 수동으로 심박수를 세어 기록했다는 제한이 있기에 정밀한 분석에는 한계가 존재한다. 추후에 심전도나 전기생리학적 장비를 사용하여 심장의 전기적 신호를 직접 기록한다면 신경전달물질과 온도 변화가 심장 활동에 미치는 영향을 더 구체적이고 신뢰성있게 밝힐 수 있을 것으로 기대한다.

VI. References

1. Campbell NA. 2019. Campbell biology. 11th ed. Pearson. p. 498–509.
2. Sabharwal R, Coote JH, Johns EJ, Egginton S. 2004. Effect of hypothermia on baroreflex control of heart rate and renal sympathetic nerve activity in anaesthetized rats. *J Physiol.* 557(1):247–259. doi:10.1113/jphysiol.2003.059444
3. Webb JL, Hollander PB. 1956. The action of acetylcholine and epinephrine on the cellular membrane potentials and contractility of rat atrium. *Circ Res.* 4(3):332–336. doi:10.1161/01.RES.4.3.332